

PAÁL ÁRPÁDTÓL A MOLEKULÁRIS NÖVÉNYBIOLÓGIÁIG

Tudományos ülés Paál Árpád születésének 125.
és intézetigazgatói kinevezésének 85.
évfordulója alkalmából



Növényélettani és Molekuláris Növénybiológiai Tanszék
Biológiai Intézet
Természettudományi Kar
Eötvös Loránd Tudományegyetem

2014

Szerkesztő: Fodor Ferenc

© A kötet szerzői, 2014

ISBN 978-963-284-561-6

A kiadvány támogatói:

Élet a Fényből – Fotoszintézis Alapítvány

Scientia Amabilis Alapítvány

Felelős kiadó:

ELTE TTK Biológiai Intézet

Növényélettani és Molekuláris Növénybiológiai Tanszék

Nyomda: EFO Nyomda, Százhalombatta

Felelős vezető: Fonyódi Ottó

www.efonyomda.hu

TARTALOMJEGYZÉK

Előszó	7
<i>Szigeti Zoltán: Paál Árpád öröksége</i>	9
<i>Fodor Ferenc: Kutatások az ELTE Növényélettani és Molekuláris Növénybiológiai Tanszékén</i>	13
I. Növényélettan és stresszfiziológia	15
II. Alkalmazott molekuláris növénybiológia	24
III. A talajban élő gombák élettana, taxonómiája és alkalmazása	28
<i>Jenes Barnabás, Vitányi Beáta, Ivanics Milán, Dudás Brigitta, Lantos Csaba, Pauk János: Lisztharmat rezisztencia kialakításának lehetősége búzában</i>	33
<i>Györgyey János, Zombori Zoltán, Gombos Magdolna, Szécsényi Mária: Lehet egy sziklevéllal kevesebb? A szálkaperje (<i>Brachypodium distachyon</i>), mint a molekuláris biológia egyik új modellnövénye</i>	39
<i>Kovács Sándor, Nagy Ágnes, Jakab Gábor: Az Embryophyta-specifikus PRLIP génnek, mint az auxin válasz újonnan felismert modulátorai</i>	43
<i>Soós Vilmos, Végh Attila, Kiss Tímea, Balázs Ervin: Egy új növényi hormon diadalútja</i>	47
<i>Takács Tünde, Németh Tamás: Nehézfémekkel szennyezett talajok remediációjára szelektált nyárfajok (<i>Populus</i> sp.) mikorrhizálási vizsgálatai</i>	51
<i>Tari Irma, Borbély Péter, Csiszár Jolán, Gémes Katalin, Horváth Edit, Kovács Judit, Poór Péter, Szepesi Ágnes, Takács Zoltán: Sóstressz tolerancia fokozása szalicilsavval paradicsom növényekben</i>	55

Böddi Béla: Protoklorofill és protoklorofillid komplexek, mint mesterséges aggregátumok és laboratóriumi etiolált növények, valamint természetben fejlődött növényi szervek fontos alkotóelemei 61

Mészáros Ilona, Sárvári Éva, Solti Ádám, Láposi Réka, Veres Szilvia, Szöllősi Erzsébet, Oláh Viktor, Tóth Brigitta: Fafajok stressz-toleranciájának vizsgálata a DE Növénytani Tanszék és az ELTE Növényélettani és Molekuláris Növénybiológiai Tanszék közötti együttműködés keretében 65

Tari Irma – Borbély Péter – Csiszár Jolán – Gémes Katalin – Horváth Edit – Kovács Judit – Poór Péter – Szepesi Ágnes – Takács Zoltán

SÓSTRESSZ TOLERANCIA FOKOZÁSA SZALICILSAVVAL PARADICSOMBAN: AZ ABSZCIZINSAV SZEREPE

Szegedi Tudományegyetem, Növénybiológiai Tanszék
tari@bio.u-szeged.hu

A paradicsom 10^{-4} M-os szalicilsavval (SA) történő kémiai edzése során a gyökerekben fölülexpresszáldtak az abszcizinsav (ABS) bioszintézisében szereplő kulcsenzimeket, a zeaxantin epoxidázt (*SIZEP*) és a 9-*cisz*-epoxikarotinoid dioxigenázt (*SINCED1*) kódoló gének, ami ABS akkumulációt eredményezett a gyökerekben és a levelekben. Alacsonyabb, 10^{-7} M-os SA koncentráció hatására csak az *SINCED1* expressziója fokozódott, ami csak a gyökerekben okozott ABS szint növekedést. A 10^{-4} M-os SA-val előkezelt növényekben a sóstressz mérsékelte az ABS bioszintézisében szereplő gének expresszióját a gyökerekben, ennek ellenére az ABS koncentráció a kezletlen kontrollénál magasabb maradt. A magas SA koncentrációval történő előkezelésnél az alacsony koncentrációval szemben a sókezelés után csökkent a megnyúlást gátló etilénprodukción a gyökércsúcsokban, nem gátlódott tovább a gyökérhossz valamint emelkedett a nettó CO_2 fixáció a sóstressznek kitett növényekben, ami jelzi a növények sikeres akklimatizációját.

Bevezetés

A növényekben a sóstressz abszcizinsav (ABS) szintézist indukál. Az ABS a C_{40} -es karotinoidokból szintetizálódik, ahol az első ABS bioszintézis-specifikus enzim, a zeaxantin epoxidáz (*SIZEP*) a zeaxantint alakítja *all-transz*-violaxantinná. A violaxantin és a neoxantin 9-*cisz*-izomerjének xantoxinná történő hasítását a 9-*cisz*-epoxikarotinoid dioxigenáz (*SINCED1*) végzi. A xantoxin a citoplazmában abszcizinaldehiddé (*ABAlD*) oxidálódik, amit az aldehid oxidázok (AOs) alakítanak ABS-sé. A levelekben az *NCED*, míg a nem-fotoszintetizáló szövetekben, elsősorban a gyökérben a *ZEP* aktivitás a sebesség meghatározó lépés (Xiong és Zhu 2003). Az exogén szalicilsav (SA) kezelés hatékony kémiai edzési módszernek bizonyult a sóstresszel szemben. A paradicsom sóstressz-indukált károsodása csak akkor csökkent SA előkezelést követően, ha kellően magas SA koncentrációval, kellő ideig történt az előkezelés (Poór és mtsai, 2011). Az SA szabályozhatja az ABS bioszintézisét is, hatása azonban ellentmondásos. Munkánk célja a

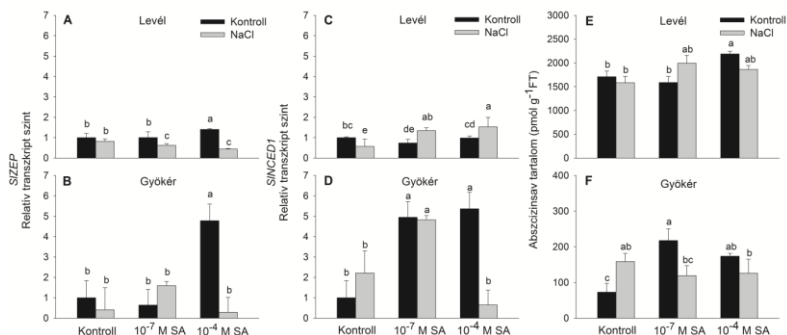
sótoleranciát nem növelő, alacsony koncentrációjú SA kezelés (10^{-7} M-os SA) és a sótoleranciát fokozó, magas koncentrációjú SA (10^{-4} M) hatásának vizsgálata volt az ABS bioszintézisben szereplő enzimek expressziójának változására és az ABS akkumulációjára. Választ szerettünk volna kapni arra a kérdésre, hogy az ABS tartalomban megfigyelhető változások hogyan korrelálnak a sóstressz toleranciát jellemző fiziológiai válaszreakciókkal.

Anyagok és módszerek

Kísérleteinkben *Solanum lycopersicum* Mill. L. cvar. Rio Fuego paradicsom növényeket 10^{-7} M-os és 10^{-4} M-os SA-val három hétig előkezeltünk, amelyet 1 hetes, 100 mM NaCl-dal indukált sóstressz követett. A DNS izolálást és a QRT-PCR reakciót a Gallé és mtsai (2013) által leírtak alapján végeztük. Az ABS mennyiségét ELISA módszerrel (Szepesi és mtsai, 2009), az etilénprodukciónál gázkromatográfiásan, a nettó széndioxid fixálást Poór és mtsai (2011) által leírtak szerint mértük.

Eredmények és diszkusszió

Az ABS bioszintézis egyik sebességhatározó enzimét kódoló gén, az *SIZEP* expressziója kissé fokozódott a 10^{-4} M SA-val előkezelt növények leveleiben, míg jelentősen emelkedett a gyökerekben.



1. ábra: Az *SIZEP* (A, B), az *SINCED1* (C, D) gének relatív mRNS gyakorisága és az absziszinsav tartalmak (E, F) változása 10^{-7} M és 10^{-4} M szalicilsavval három hétig előkezelt paradicsom növények leveleiben (A, C, E) és gyökereiben (B, D, F) egyhetes, 100 mM-os NaCl-dal történt kezelés után. Átlag±SE. A különböző betűvel jelzett átlagok szignifikánsan különböznek egymástól $P \leq 0.05$ valószínűségi szinten (Duncan teszt). FT: friss tömeg.

Nem volt azonban szignifikáns változás az alacsonyabb koncentrációjú SA-val történő előkezelés után. Sóstressz hatására a gén expressziója csökkent, ami a legerőteljesebb a 10^{-4} M SA-val előkezelt gyökerekben volt (1. ábra, A, B). Mind az alacsony, mind a magas SA

koncentrációval kezelt gyökerekben magas *SINCE1* expressziót kaptunk, ezzel szemben nem volt változás a levelekben. A sókezelés hatására csökkent az *SINCE1* gén expressziója a kontroll növények leveleiben, míg kissé növekedett az előkezelt növényekben. A gyökerekben 10^{-7} M-os SA előkezelésnél és a sóstressz alatt is igen magas génexpressziót mértünk, ezzel szemben jelentős expresszió csökkenés történt a magas SA koncentrációval előkezelt gyökerekben (1. ábra, C, D).

Az ABS tartalmak nem mutattak közvetlen korrelációt a génexpressziós változásokkal. A 10^{-4} M SA előkezelés a levelekben szingnifikánsan megemelte az ABS tartalmat, ami mérsékelten csökkent sóstressz hatására. Kis SA koncentrációnál ez a tendencia nem volt megfigyelhető. Az előkezelések hatására a gyökerekben jóval több ABS akkumulálódott, mint a kezeletlen kontrollban, a sóstressz hatására azonban a gyökerekben csökkentek az SA-indukált ABS koncentrációk (1. ábra, E,F). Megállapíthatjuk azonban, hogy a gyökerekben indukálódó ABS szintézis nagymértékben járul hozzá az ABS hajtásban történő akkumulációjához. Ennek egyik lehetséges oka az, hogy a hormon bioszintézise elsősorban a xilémparenchima sejtekhez kötődik, ahonnan könnyen bejut a xilémbe, és így transzportálódik a hajtásba (Gallé és mtsai, 2013).

A sóstressz csökkentette a paradicsom növények növekedését és biomassza produkcióját, de míg alacsony SA-val történő előkezelésnél a kontrollhoz hasonlóan gátolta a gyökerek megnyúlását, 10^{-4} M SA előkezelés után a gyökerek növekedése nem csökkent tovább, ami a sótolerancia egyik morfológiai jele. A főgyökér növekedését meghatározó másik paraméter, a gyökércsúcsok etilénprodukciója, amit az ABS is indukál, a sóstressz hatására magas maradt a kontroll és a 10^{-7} M-os SA-val előkezelt növényekben, míg szignifikáns etilénprodukció csökkenést kaptunk a magas SA koncentrációval történt előkezelés után. Ez arra utal, hogy a sóstressz hatására a gyökércsúcsban szintetizálódó etilén fontos szerepet játszik a gyökérnövekedés gátlásában. A sótolerancia további kiváló fiziológiai markere a fotoszintézis intenzitásának a változása, a nettó CO_2 fixálás. Ez jelentősen csökkent a sókezelt kontroll növényekben, viszont részlegesen helyreállítódott az SA előkezelés után, különösen a magasabb SA koncentrációnál (1. táblázat).

Összefoglalva, a paradicsom SA-val történő kémiai edzése ABS bioszintézist indukált a gyökerekben a két kulcsenzim, a *ZEP* és az *NCED* transzkripciójának fokozásával, ami ABS akkumulációt eredményezett a gyökerekben (10^{-7} M-os és 10^{-4} M-os SA) és a levelekben (10^{-4} M-os SA). Míg az alacsony SA aktiváló hatása az *NCED*-re irányult, addig magas SA koncentrációnál valamennyi gén (*SIZEP*, *SINCE1*) és az itt be nem mutatott aldehidoxidáz (*SIAOI*) expressziója is fokozódott.

1.táblázat: A gyökérmegnyúlás, a nettó CO₂ fixálás és a gyökércsúcsok etilénprodukcója 10⁻⁷ M és 10⁻⁴ M szalicilsavval három hétig előkezelt paradicsom növényekben, egyhetes, 100 mM-os NaCl-dal történő kezelés után.

Kezelés	Gyökérhossz (cm)	Nettó CO ₂ fixáció (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	Etilénprodukcó, (nl g ⁻¹ FT ⁻¹ h ⁻¹)
Kontroll	20.56±1.40 ^{ab}	12.95±1.65 ^a	0.151±0.02 ^a
100 mM NaCl	16.98±3.27 ^b	7.73±0.55 ^b	0.081±0.00 ^a
10 ⁻⁷ M SA	22.78±2.61 ^a	11.5±1.35 ^a	0.119±0.01 ^a
10 ⁻⁷ M SA+ 100 mM NaCl	19.90±3.15 ^b	8.77±0.21 ^{ab}	0.108±0.01 ^a
10 ⁻⁴ M SA	16.98±0.21 ^b	11.79±1.92 ^{ab}	0.072±0.00 ^a
10 ⁻⁴ M SA+ 100 mM NaCl	16.97±3.64 ^{ab}	9.45±1.36 ^{ab}	0.010±0.00 ^b

Átlag±SE, n=8. (Tukey teszt; ns: nem szignifikáns, FT: friss tömeg).

Mivel az ABS a sóstresszre adott növényi válaszreakciók legtöbbjét, így az ion homeosztázis fenntartásához szükséges plazmamembrán és vakuoláris H⁺-ATP-áz aktivitást, az ozmotikus adaptációt és az antioxidáns rendszerek aktiválódását is szabályozza (Ashraf, 2009), fontos a gyökérmegnövekedést nem gátló ABS pool fenntartása. Sóstressz alatt csökkent a vizsgált gének expressziója a gyökerekben a 10⁻⁴ M SA előkezelés után, ami az ABS tartalom csökkenésével járt együtt. Ez csökkentette a gyökerek etilénprodukcóját, ami szignifikánsan alacsonyabb volt a 10⁻⁴ M SA-val kezelt gyökerekben, lehetővé téve a gyökerek megnyúlását. A magas SA koncentrációval előkezelt növények fokozódó CO₂ asszimilációja és az ezzel együtt csökkenő ABS szint egyúttal arra is utal, hogy a növények sikeresen akklimatizálódnak a sóstresszhez.

Irodalomjegyzék

- Ashraf M. (2009) Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotech. Advan.* 27: 84-93.
- Gallé Á., Csiszár J, Benyó D., Laskay G., Leviczky T., Erdei L., Tari I. (2013) Isohydric and anisohydric strategies of wheat genotypes under osmotic stress: Biosynthesis and function of ABA in stress responses. *J. Plant Physiol.* 170:1389-1399.

- Poór P., Gémes K., Horváth F., Szepesi Á., Simon M.L., Tari I. (2011) Salicylic acid treatment via the rooting medium interferes with stomatal response, CO₂ fixation rate and carbohydrate metabolism in tomato, and decreases harmful effects of subsequent salt stress. *Plant Biol.* 13:105-114.
- Szepesi Á., Csiszár J., Gémes K., Horváth E., Horváth F., Simon L.M., Tari I. (2009) Salicylic acid improves acclimation to salt stress by stimulating abscisic aldehyde oxidase activity and abscisic acid accumulation, and increases Na⁺ content in leaves without toxicity symptoms in *Solanum lycopersicum* L. *J. Plant Physiol.* 166: 914-925.
- Xiong L., Zhu J-K. (2003) Regulation of abscisic acid biosynthesis. *Plant Physiol.* 133: 29-36.

Summary

HARDENING OF TOMATO PLANTS TO HIGH SALINITY BY SALICYLIC ACID: THE ROLE OF ABSCISIC ACID

Hardening of tomato to salinity stress with 10⁻⁴ M SA (“high SA”) in long-term experiments resulted in an up-regulation of ABA biosynthesis genes, zeaxanthin epoxidase (*SIZEP1*) and 9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase (*SINCE1*) in the roots and led to ABA accumulation both in root and leaf tissues. In plants pre-treated with lower concentration of SA (10⁻⁷ M, “low SA”) the up-regulation of *SINCE1* in the roots promoted ABA accumulation in the root tissues but the hormone concentration remained at control level in the leaves. Salt stress induced by 100 mM NaCl resulted in a down-regulation of ABA biosynthetic genes in plants hardened with high SA but did not arrest ABA accumulation in the root tissues. Unlike „low SA”, “high SA” pre-treatment led to partially recovered photosynthetic activity, reduced ethylene production, restored root growth under salt stress, which are main traits of salt tolerance.